

1021.43570X00

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant(s): Hideyuki NODA, et al  
Serial No.:  
Filed: March 1, 2004  
Title: METHOD AND APPARATUS FOR MANUFACTURING  
BEADS ARRAY CHIP  
Group:

LETTER CLAIMING RIGHT OF PRIORITY

Mail Stop Patent Application  
Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

March 1, 2004

Sir:

Under the provisions of 35 USC 119 and 37 CFR 1.55, the applicant(s) hereby claim(s) the right of priority based on Japanese Patent Application No.(s) 2003-185583 filed June 27, 2003.

A certified copy of said Japanese Application is attached.

Respectfully submitted,

ANTONELLI, TERRY, STOUT & KRAUS, LLP



Alan E. Schlavell  
Registration No. 32,087

AES/nac  
Attachment  
(703) 312-6600

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日                      2 0 0 3 年    6 月 2 7 日  
Date of Application:

出 願 番 号                      特 願 2 0 0 3 - 1 8 5 5 8 3  
Application Number:  
[ST. 10/C]:                      [ J P 2 0 0 3 - 1 8 5 5 8 3 ]

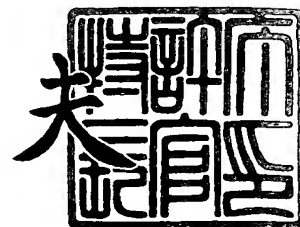
出      願      人                      株式会社日立製作所  
Applicant(s):



2 0 0 4 年    2 月 1 2 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号    出証特 2 0 0 4 - 3 0 0 8 7 5 7

【書類名】 特許願

【整理番号】 H300736

【提出日】 平成15年 6月27日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12Q 1/68

【発明者】

【住所又は居所】 東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目 2 8 0 番地 株式会社  
日立製作所 中央研究所内

【氏名】 野田 英之

【発明者】

【住所又は居所】 東京都国分寺市東恋ヶ窪一丁目 2 8 0 番地 株式会社  
日立製作所 中央研究所内

【氏名】 小原 賢信

【特許出願人】

【識別番号】 000005108

【氏名又は名称】 株式会社 日立製作所

【代理人】

【識別番号】 100091096

【弁理士】

【氏名又は名称】 平木 祐輔

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015244

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ビーズアレイチップ作製装置及び作製方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 複数のビーズ収納部を有するビーズ収納プレートを保持するステージと、

前記ステージを駆動するステージ駆動部と、

実質的に平行に設けられた複数の第 1 の貫通路及び前記複数の第 1 の貫通路と交差する第 2 の貫通路を有する容器を保持する容器保持部と、

前記容器の前記第 2 の貫通路を貫通して可動なキャピラリと、

前記キャピラリを上下方向に駆動するキャピラリ駆動部と、

前記キャピラリの上端に接続され当該キャピラリの下端に吸引力を発生させるための吸引手段と、

前記容器保持部に保持した容器の前記第 1 の貫通路に一方向に流れる流体流を発生するための流体流通手段と、

前記ステージ駆動部、前記キャピラリ駆動部、前記吸引手段及び前記流体流通手段を制御する制御部とを備え、

前記容器の前記第 1 の貫通路に前記ビーズ収納プレートの複数の収納部に収納されたビーズを定められた順序に従って並べたビーズアレイチップを作製することを特徴とするビーズアレイチップ作製装置。

【請求項 2】 請求項 1 記載のビーズアレイチップ作製装置において、前記キャピラリ駆動部は複数のキャピラリを同時に駆動し、前記容器保持部は前記キャピラリの数と同数の前記容器を保持することを特徴とするビーズアレイチップ作製装置。

【請求項 3】 請求項 1 記載のビーズアレイチップ作製装置において、前記キャピラリは、内径がビーズの直径より小さく、外径がビーズの直径より大きくビーズの直径の 2 倍より小さいことを特徴とするビーズアレイチップ作製装置。

【請求項 4】 請求項 1 記載のビーズアレイチップ作製装置において、前記容器保持部は、前記第 1 の貫通路の一端に連通する流路を有して前記容器の一方の端部を保持する第 1 の保持部材と、前記第 1 の貫通路の他端に連通する流路を

有して前記容器の他方の端部を保持する第2の保持部材を備え、前記流体流通手段は、前記第1の保持部材に接続された流体注入手段と前記第2の保持部材に接続された流体吸引手段とを有することを特徴とするビーズアレイチップ作製装置。

【請求項5】 請求項1記載のビーズアレイチップ作製装置において、前記ビーズは直径が $10\mu\text{m}$ から $500\mu\text{m}$ であり、表面に生体分子プローブが固定されていることを特徴とするビーズアレイチップ作製装置。

【請求項6】 実質的に平行に設けられた複数の第1の貫通路及び前記複数の第1の貫通路と交差する第2の貫通路を有する容器の前記第1の貫通路に複数種類のビーズを所定の順序で並べたビーズアレイチップを作製する方法であって、

前記第2の貫通路に挿入されたキャピラリを下方に駆動し、先端に1個のビーズを吸引保持するステップと、

先端に保持したビーズが前記複数の第1の貫通路のうちの所望の貫通路内に位置するように前記キャピラリを上方に駆動するステップと、

前記キャピラリの吸引を停止するステップと、

前記第2の貫通路中に一方向に流れる流体の流れを発生させるステップとを含むことを特徴とするビーズアレイチップ作製方法。

【請求項7】 請求項6記載のビーズアレイチップ作製方法において、前記容器を複数並置し、各容器の前記第2の貫通路に1本ずつ挿入された複数のキャピラリを同時に駆動することを特徴とするビーズアレイチップ作製方法。

【請求項8】 請求項6記載のビーズアレイチップ作製方法において、前記ビーズは表面に生体分子プローブが固定されていることを特徴とするビーズアレイチップ作製方法。

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【0001】

#### 【発表の属する技術分野】

本発明は、表面に生体分子プローブが固定された微小なビーズを1個ずつ操作してビーズアレイ容器に形成されたマイクロ流路内へ導入、配置してビーズアレ

チップを作製する方法及び装置に関する。

#### 【0002】

##### 【従来の技術】

ゲノム計画の進展とともにDNAレベルで生体を理解し、病気の検査や生命現象を理解しようとする動きが活発化してきた。生命現象の理解や遺伝子の働きを調べるには遺伝子の発現状況を調べるのが有効である。この遺伝子の発現状況を調べる有力な方法として、スライドガラス等の固体表面上に数多くのDNAプローブを種類毎に区分けして固定したプローブアレイ、いわゆるDNAチップが用いられてきている。DNAチップを作る方法としては、光化学反応と半導体工業で広く使用されるリソグラフィーを用いて、区画された多数のセルに設計された配列のオリゴマーを1塩基ずつ合成していく方法 (Science 251, 767-773 (1991))、又は複数種類のDNAプローブを各区画に1つ1つ植え込んでいく方法 (Science 270, 467-470 (1995); Nat. Biotechnol. 18, 438-441 (2000)) 等がある。

#### 【0003】

DNAチップの作製にあたっては、何れの方法も1枚1枚のアレイ毎に、DNAプローブを固定するか、オリゴマーを1塩基ずつ合成する必要がある、製作に手間と時間がかかり、コスト高になる。また、プローブを固体表面に液滴としてのもせて固定化するので、区画ごとにばらつきが出る、プローブ種の組み合わせの変更が容易でない、使用者が容易に操作できない、等の難点がある。

#### 【0004】

以上の課題を解決するために、ビーズにDNAプローブを固定したものを用意し、これら複数種類のビーズを集めたプローブアレイ、すなわちビーズアレイが提案されている (Clinical Chemistry 43, 1749-1756 (1997); Science 287, 451-452 (2000); Nucleic Acids Research 30, e87 (2002))。ビーズを用いたプローブアレイの利点は、溶液中の化学反応を利用したプローブ固定方法が利用できるため、ビーズ毎にプローブ密度にばらつきのないプローブアレイを作製することができることである。

#### 【0005】

DNAチップでは、オリゴマー作製位置もしくは各DNAプローブやタンパク質プローブのスポット位置によりプローブ種を識別する方法をとっているが、プローブ固定化ビーズを用いたプローブアレイでは、プローブ毎に色分けしたビーズを用いる方法 (Clinical Chemistry 43, 1749-1756 (1997); Science 287, 451-452 (2000))、又はキャピラリ内に並べる順序でプローブ種を識別する方法 (Nucleic Acids Research 30, e87 (2002)) をとっている。

#### 【0 0 0 6】

DNAチップでは、計測試料中に含まれる複数種類のDNAの同定、定量解析に、半日から一日の時間を費やして、チップ上に固定したオリゴマー又はDNAと反応させる。一方、キャピラリ内にビーズを並べたプローブアレイ、即ちビーズアレイでは、計測試料をキャピラリ内に強制的に流す。ビーズアレイは、従来法と比較して遺伝子検査時間を短縮できるため、病院など、臨床現場での使用に適した計測技術である。例えば、緊急な診断が要求される感染症、細菌検査等での病原微生物ゲノムの自己に存在しない外来遺伝子の迅速な検出手段として使用することが期待できる。

#### 【0 0 0 7】

ビーズアレイの実用化にあたっては、任意のプローブ固定化ビーズを検査用途に合わせて選択し、思い通りに配列する方法を確立することが必須である。これまでのところ、ビーズを1個ずつ制御しながら液体の流れを利用してキャピラリ内に流し込む方法 (特開平11-243997号公報) や、ビーズが1つしか入らない微細な穴が設けられたシート上に、溶媒とともに導入された複数のビーズの中から1つのビーズだけを保持して、保持したままシートをキャピラリあるいは平板に設けた溝の位置まで移動して並べていく方法 (特開2000-346842号公報) が提案されている。

#### 【0 0 0 8】

##### 【非特許文献1】

Science 251, 767-773 (1991)

##### 【非特許文献2】

Science 270, 467-470 (1995)

## 【非特許文献 3】

Nat. Biotechnol. 18, 438-441 (2000)

## 【非特許文献 4】

Clinical Chemistry 43, 1749-1756 (1997)

## 【非特許文献 5】

Science 287, 451-452 (2000)

## 【非特許文献 6】

Nucleic Acids Research 30, e87 (2002)

## 【特許文献 1】

特開平 1 1 - 2 4 3 9 9 7 号公報

## 【特許文献 2】

特開 2 0 0 0 - 3 4 6 8 4 2 号公報

## 【0 0 0 9】

## 【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、従来のビーズアレイ作製方法では、気泡の影響でビーズをうまく取り込めない場合が多く、確実性や操作性に問題があった。

## 【0 0 1 0】

本発明は、所望の DNA、RNA、タンパク質等の生体分子プローブを固定したビーズをビーズアレイ容器に予め定めた順序で導入して配置し、同一チップ上に簡便に 2 次元のビーズアレイを形成するビーズアレイチップ作製装置及び作製方法を提供することを目的とする。

## 【0 0 1 1】

## 【課題を解決するための手段】

本発明では、ビーズをビーズ収納プレートの収納部から 1 個ずつ取り出し、所望の位置へ搬送するためのマニピュレート手段として、先端にビーズを吸引して移動するビーズ捕捉キャピラリを用いる。また、複数のビーズを決められた順序で整列させて保持するための容器として、ビーズが 1 つだけ通過できる幅を持つビーズ配置流路と、ビーズ捕捉キャピラリが通過できる幅を持ちビーズ捕捉キャピラリのガイドとなるキャピラリ通路が交差する構造を有する光学的に透明なガ



ラス製もしくは樹脂製の容器（ビーズアレイ容器）を用意する。

#### 【0012】

ビーズ捕捉キャピラリは、内径がビーズの直径より小さく、外径がビーズの直径より大きくビーズの直径の2倍以下のものである。ビーズ捕捉キャピラリの一端は吸引ポンプに繋がられて、キャピラリ先端に吸引力を発生できるようになっている。m本用意したビーズ捕捉キャピラリをm枚のビーズアレイ容器のキャピラリ通路の一端からそれぞれ挿入し、各キャピラリの先端とビーズ収納プレート各収納部が対向する位置関係を保つように、各部材を配置する。ビーズアレイ容器のビーズ配置流路の両端は、それぞれ水供給系と水吸引ポンプに繋がられ、流路内に水流を生じさせることができる。

#### 【0013】

ビーズ収納プレートの収納部からビーズを捕捉するために、ビーズ捕捉キャピラリの先端をビーズアレイ容器のキャピラリ通路の下端から突出させて収納部内に浸漬し、1個のビーズを先端に吸引して捕捉する。その後、先端にビーズを保持したビーズ捕捉キャピラリ内部を陰圧に保ったまま、ビーズアレイ容器内へ引き戻す。キャピラリ先端に保持された1個のビーズがキャピラリ通路とビーズ配置流路との交差点に位置したところで、ビーズ捕捉キャピラリの移動を停止し、吸引ポンプによるキャピラリ内の吸引も停止する。このとき、キャピラリ先端のビーズは、キャピラリ内部の真空状態により先端に保持されたままである。

#### 【0014】

次に、ビーズ配置流路の一端に繋がっている水供給系から純水を供給し、一方、ビーズ配置流路の他端に繋がっている水吸引ポンプにより純水を吸引する。このようにして生じた流路内の水流を利用し、ビーズ捕捉キャピラリの先端からビーズを物理的に遊離させ、ビーズ配置流路へ流し込む。ビーズ配置流路の末端には堰が設けられてあり、導入されたビーズは堰により流路内にとどまり、配置される。

#### 【0015】

この一連の操作により、任意のビーズをビーズアレイ容器のビーズ配置流路に1つずつ導入することができる。そして、ビーズ収納プレート上の目的とする位

置を指定し、目的とする順番で1つずつ任意のビーズを、ビーズアレイ容器のビーズ配置流路の中に配列させていくことにより生体分子プローブを固定したビーズアレイチップを確実に、効率的に、安価に作製することができる。

#### 【0016】

本発明によるビーズアレイチップ作製装置は、複数のビーズ収納部を有するビーズ収納プレートを持するステージと、ステージを駆動するステージ駆動部と、実質的に平行に設けられた複数の第1の貫通路及び複数の第1の貫通路と交差する第2の貫通路を有する容器を持する容器保持部と、容器の第2の貫通路を貫通して可動なキャピラリと、キャピラリを上下方向に駆動するキャピラリ駆動部と、キャピラリの上端に接続され当該キャピラリの下端に吸引力を発生させるための吸引手段と、容器保持部に保持した容器の第1の貫通路に一方向に流れる流体流を発生するための流体流通手段と、ステージ駆動部、キャピラリ駆動部、吸引手段及び流体流通手段を制御する制御部とを備え、容器の第1の貫通路にビーズ収納プレートの複数の収納部に収納されたビーズを定められた順序に従って並べたビーズアレイチップを作製するものである。

#### 【0017】

また、本発明によるビーズアレイチップ作製方法は、実質的に平行に設けられた複数の第1の貫通路及び第1の貫通路と交差する第2の貫通路を有する容器の第1の貫通路に複数種類のビーズを所定の順序で並べたビーズアレイチップを作製する方法であり、第2の貫通路に挿入されたキャピラリを下方に駆動し、先端に1個のビーズを吸引保持するステップと、先端に保持したビーズが複数の第1の貫通路のうちの所望の貫通路内に位置するようにキャピラリを上方に駆動するステップと、キャピラリの吸引を停止するステップと、第2の貫通路中に一方向に流れる流体の流れを発生させるステップとを含む。

#### 【0018】

##### 【発明の実施の形態】

以下、図面を参照して本発明の実施の形態を説明する。

#### 【0019】

まず、図1を用いて、ビーズ28の調製方法について説明する。 $m \times n$ 個の収

納部を有するビーズ収納プレートと、ビーズ群と、ビーズを修飾する複数種の DNA、RNA 又はタンパク質等の生体分子プローブとを用意する。用意するビーズ収納プレート 5 上の収納部 4 は、x 方向に所定の中心間隔（第 1 の所定の中心間隔）で等間隔に配置されており、x 方向と直交する y 方向に所定の間隔（第 2 の所定の中心間隔）で等間隔に配置されている。収納部 4 は円形の上部開口を持ち、z 方向に平行な中心軸を持ち、底部を持つ円柱の形状をしている。このような複数の収納部 4 を有するビーズ収納プレート 5 としては、例えば市販の 384 穴マイクロタイタープレートを用いることができる。ビーズは、ほぼ同一の外径のものを一度に用意する。ビーズのサイズは、ビーズマニピュレーション手段として安定に使用できるキャピラリの最大径または最小径に依存しており、ビーズ 1 個で蛍光検出できるだけの生体分子プローブの量をビーズ表面に固定できるだけの表面積を有するものを使用するという観点からして、直径数  $\mu\text{m}$  から数 100  $\mu\text{m}$ 、好適には直径 10  $\mu\text{m}$  から 500  $\mu\text{m}$  程度の球状のものを使用するのが好ましい。以下では、説明を簡単にするために、使用するビーズの外径を 100  $\mu\text{m}$  とする。

#### 【0020】

ビーズ容器 55 から、薬さじを用いて  $m \times n$  個の収納部を有するビーズ収納プレート 5 の各収納部 4 に、数  $m\text{g}$  単位で用意したビーズを分配し、収納部 4 の列を単位として、又は各収納部に、異なる種類のプローブを導入して、全てのビーズ表面にプローブを固定させる。これにより、収納部 4 の位置によりプローブの種類が対応づけられたプローブ固定化ビーズ群 42 を複数種保持したビーズ収納プレート 5 が用意できる。本例では、 $n$  種類の生体分子プローブを用意し、第 1 列の  $m$  個の収納部には No. 1 の生体分子プローブを、第 2 列の  $m$  個の収納部には No. 2 の生体分子プローブを、……、第  $n$  列の  $m$  個の収納部には No.  $n$  の生体分子プローブを導入して、各収納部に収納されたビーズにプローブを固定した。ビーズ収納プレート 5 は、ビーズに固定したプローブが DNA 等の化学的に比較的安定な生体分子の場合、一度作製したビーズ収納プレート 5 をデシケータ内で保存、もしくは冷蔵庫で保存できるため、作り置きが可能である。各収納部 4 に純水等の溶媒を導入したビーズ収納プレート 5 は、後述するビーズアレイチップ作製装

置のビーズ収納プレート用ステージに設置される。

#### 【0021】

図2は、ビーズアレイチップ作製用容器の概略説明図である。図2（A）はビーズアレイ容器を構成する基板の平面図、図2（B）はビーズアレイ容器の分解組み立て図である。

#### 【0022】

ビーズアレイ容器12は、ウェットエッチング等により表面に複数のビーズ配置流路14及びそれと直交するキャピラリ通路20をパターンニングした石英ガラスやパイレックス製のスライドガラスあるいはPDMSからなる基板10に、加工していないスライドガラス11を密着させ、接着することにより作製される。複数のビーズ配置流路14は、ビーズが1個だけ通過できる断面積を有し、互いに平行に設けられている。また、各ビーズ配置流路14は、キャピラリ通路20と反対側の末端領域に、ビーズが流出しないようにするための堰36が設けられている。堰36とビーズ配置流路14の流路壁の間には、流路を閉塞しないように隙間が設けられている。後述するように、各ビーズ配置流路14には、上流側の開口部38aから下流側の開口部38bに向けて液体が流通され、ビーズは液流によってビーズ配置流路14中を上流側から下流側に向けて搬送される。

#### 【0023】

図3は、本発明によるビーズアレイチップ作製装置の構成例を示す概略図である。このビーズアレイ作製装置は、第1の板状部材1、第2の板状部材2、第3の板状部材3を備える。

#### 【0024】

第1の板状部材1の上には、DNA、RNA、タンパク質等の生体分子と結合するプローブを固定したビーズを複数の収納部4に保持した上述のビーズ収納プレート5及び洗浄槽6をセットできるステージ7が、第1の電動アクチュエータ8を介して設置されている。洗浄槽6には、コンタミを防止するのに適した洗浄液が入れられている。さらに、洗浄効果を高めるために、洗浄槽6には超音波振動器が取り付けられている。図には、簡単のために、x方向に3個、y方向に5個で合計 $3 \times 5 = 15$ 個の収納部4を有するビーズ収納用プレート5を設置した

例を示しており、ビーズ収納プレート 5 の位置と、洗浄槽 6 の位置は、y 方向に移動可能な第 1 の電動アクチュエータ 8 により制御される。

#### 【0025】

第 2 の板状部材 2 の上部には、ビーズアレイ容器 12 をセットするためのカートリッジ方式容器ホルダ 13 a, 13 b と、容器ホルダ 13 a を介してビーズアレイ容器 12 内の全てのビーズ配置流路 14 への純水の供給を制御する第 1 の電磁弁ユニット 15 と、容器ホルダ 13 b を介してビーズ配置流路 14 内に供給された純水を吸引するために必要な第 2 の電磁弁ユニット 16 が設置されている。第 1 の電磁弁ユニット 15 は水供給系 17 に繋がり、第 2 の電磁弁ユニット 16 は第 1 の吸引ポンプ 18 に繋がっている。また、容器ホルダ 13 a, 13 b 内には流路が形成されており、ビーズ配置流路 14 と連結できるようになっている。第 2 の板状部材 2 の下部には、後述する第 3 の板状部材 3 に取り付けられたビーズ捕捉キャピラリ 19 を挿入し、移動させるためのビーズアレイ容器 12 内のキャピラリ通路 20 の開放端を開閉するために用いる第 3 の電磁弁ユニット 21 が設置されている。

#### 【0026】

図 3 に示す例では簡単のために、x 方向に配列される 3 枚のビーズアレイ容器 12 を容器ホルダ 13 a, 13 b に設置した状態を示している。ビーズ収納用プレート 5 として 384 (16×24) 穴マイクロタイタープレートを用いる実際の構成では、例えば、25mm×75mm の大きさ、3mm の厚さを持つスライドガラス状のビーズアレイ容器 12 を、その縁が x-y 面上で長手方向が y 方向に沿うようにして、中心間隔 4.5mm で 16 枚設置する。

#### 【0027】

第 3 の板状部材 3 には、先端部にビーズを 1 個だけ吸引して保持できる内径を持つ複数のビーズ捕捉キャピラリ 19 が、中心軸を板状部材 3 に垂直にして x 方向に一行に並べて固定されている。複数のビーズ捕捉キャピラリ 19 の中心軸の間隔は第 1 の所定の中心間隔とされている。第 3 の板状部材 3 は、第 2 の電動アクチュエータ 23 により制御される。

#### 【0028】

ビーズ捕捉キャピラリ 19 が先端部にビーズを 1 つだけ吸引して保持するためには、ビーズの半径を  $R$  とする時、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の内径  $ID$  は、 $ID \ll R$  なる関係を満たせば良く、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の外径を  $OD$  とする時、 $OD$  は、 $R \leq OD < 2R$  なる関係を満たせばよい。ビーズの半径が  $100 \mu m$  の時、内径  $50 \mu m$ 、外径  $100$  もしくは  $150 \mu m$  のガラス製又はステンレス製のキャピラリを用いるのが妥当である。ビーズ捕捉キャピラリ 19 の一端は、第 4 の電磁弁ユニット 25 を介して、第 2 の吸引ポンプ 24 に繋がっている。

#### 【0029】

ビーズアレイ容器 12 には、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の誘導通路であるキャピラリ通路 20 とビーズを配置させるためのビーズ配置流路 14 が形成されている。図 3 の  $z$  方向にキャピラリ通路 20 が、図 3 の  $y$  方向にビーズ配置流路 14 が形成されており、ビーズアレイ容器 12 内でキャピラリ通路 20 とビーズ配置流路 14 は交差している。

#### 【0030】

ビーズアレイ容器 12 のビーズ配置流路 14 の内部にビーズを 1 つずつ順次吸引して、吸引された順序を保持した状態で、内部に複数のビーズを配列するためには、ビーズ配置流路 14 の幅の 2 辺ともに長さ  $X$  で構成される四角柱とする時、 $R < X < ((2 + \sqrt{2}) / 2) R$  なる関係を満たせばよい。一方、キャピラリ通路 20 は、ビーズ捕捉キャピラリ 19 が挿入できる幅を有する必要があるため、キャピラリ通路 20 の幅を 2 辺ともに長さ  $X'$  で構成される四角柱とする時、は、 $OD < X'$  なる関係を満たす必要がある。例えば、ビーズ配置流路 14 の幅  $X$  が  $130 \mu m$ 、キャピラリ通路 20 の幅  $X'$  が  $200 \mu m$  のビーズアレイ容器 12 を使用するのが好ましい。

#### 【0031】

ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端にビーズが保持されているかどうかを確認するために、第 1 の板状部材 1 と第 2 の板状部材 2 に挟まれた位置に、つまり、ビーズ捕捉キャピラリ 19 がビーズ収納プレート 5 とビーズアレイ容器 12 の間を行き来する中間位置に画像センサ 22 を設置している。画像センサ 22 用のレンズの数は、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の数に対応しており、一度に複数の単一ビ

ーズを検出できるようになっている。

### 【0032】

図3に示す全システムにおける駆動部である第1の電動アクチュエータ8、第2の電動アクチュエータ23、第1の吸引ポンプ18、第2の吸引ポンプ24、第1の電磁弁ユニット15、第2の電磁弁ユニット16、第3の電磁弁ユニット21、第4の電磁弁ユニット25、画像センサ22は、コンピュータ（制御装置）26により総括的に制御される。

### 【0033】

図4は、ビーズアレイ容器をビーズアレイチップ作製装置にセットする様子を示す模式図であり、図3のビーズアレイチップ作製装置に装着したビーズアレイ容器のx y断面を示している。

### 【0034】

図4（A）は、図2に示したビーズアレイ容器12をビーズアレイ作製装置のカートリッジ方式容器ホルダ13a、13bにセットした状態を示している。ビーズアレイ容器12を容器ホルダ13a、13bの凹部にはめ込む。その後、容器ホルダ13a、13bをビーズアレイ容器12に押し付けることで、図4（B）に示すように、容器ホルダ13a、13b内の流路40の端のPDMS製ソケット34がビーズ配置流路14に挿入される。これにより、容器ホルダ内の流路40とビーズアレイ容器12上のビーズ配置流路14が確実に連結される。こうして、ビーズアレイ容器12を容器ホルダ13a、13bに必要な数だけセットする。ビーズアレイ容器は、通常は、使用するビーズ収納プレート1列の収納部の数mに対応する数、即ちm枚セットされる。

### 【0035】

次に、本発明のビーズアレイチップ作製装置の動作手順について説明する。

図5は、プリセット状態にあるビーズアレイチップ作製装置のy-z断面模式図である。コンピュータ26の電源を入れることで、全システムはプリセット状態となり、第1の吸引ポンプ18、第2の吸引ポンプ24、さらに水供給系17が稼動し、第1の電磁弁ユニット15、第2の電磁弁ユニット16、第3の電磁弁ユニット21が閉の状態となる。また、第2の電動アクチュエータ23の制御

で第3の板状部材3が下降し、ビーズ捕捉キャピラリ19がビーズアレイ容器12内のキャピラリ通路20内へ導入される。

#### 【0036】

次に、コンピュータ26上の入力画面で、使用するビーズアレイ容器12の番号と容器内に配置したい検査項目を固定したビーズの収納部4を選択する。もちろん、ビーズ収納プレート5の収納部4内のビーズをy方向の1方向に沿って順番にビーズ配置流路14へ配置するなどの単純な工程は、予めデフォルトプログラムとしてコンピュータの駆動ソフト上に存在しており、画面上の駆動ボタンをクリックするだけでよい。

#### 【0037】

図6は、コンピュータ26の表示画面の一例を示す図である。表示画面の上側61にはビーズ収納プレートの情報が表示される。具体的には、指定したビーズ収納プレートのID62、ビーズ収納プレートの収納部の並びを収納部番号63付きで示す配置図64、及び各収納部に収納されたビーズの情報（プローブ情報）65が表示される。ビーズ収納プレート上の収納部とビーズの情報がリンクしており、配列したいビーズをビーズ情報表示画面65より選択することができる（配列する流路の選択も行う）。ここで、以前作製したビーズ収納プレートの情報は、コンピュータに登録しておけば、プレートのIDから簡便に呼び出すことができる。

#### 【0038】

表示画面の下側71には、チップID72と共に、画面上側で選択したビーズの情報を反映したビーズアレイチップの作製結果（予想）73が表示される。ビーズアレイチップの詳細74も、画面右側に表示される。ここで、以前作製したビーズアレイチップの配列結果をコンピュータに登録しておけば、配列に必要なビーズ収納プレートのIDを呼び出すことができる機能も搭載している。ビーズアレイチップの詳細としては、検査対象、検査項目数（ビーズ配列個数）などの情報が表示される。ビーズアレイチップを作製した後、画面上のデータはプリントアウトできるため、ユーザにビーズアレイチップだけでなく、その情報も同時に提供できることになる。



## 【0039】

プローブ固定ビーズが予め調製され収納されているビーズ収納プレートのIDと、そのビーズ収納プレートの各収納部に収納されているビーズに固定されたプローブ種との対応関係を記憶装置に保存しておく。また、遺伝子検査を病名で分類し、各遺伝子検査に必要なプローブの種類も記憶装置に記憶させておく。すると、ビーズアレイチップ作製装置を制御するコンピュータの選択画面に複数の病名を選択可能に表示し、検査したい病名を選択することにより、その病名の遺伝子検査に必要なプローブを配列したビーズアレイチップを簡便に自動作製することができるようになる。

## 【0040】

プローブが固定されているビーズを所定の順番で並べられたビーズアレイチップは、チップ内に収納された各ビーズに固定されているプローブの種類を記載した記憶媒体とともにユーザに提供するのが好ましい。

## 【0041】

また、ある疾患関連遺伝子の検査に必要なDNA、RNA、タンパク質等のプローブを固定した複数種のビーズ、もしくは感染症等などの外来遺伝子の推定に必要なプローブを固定した複数種のビーズを、ビーズ収納プレート別に予め調製して化学的に安定な状態で保存しておく、患者の問診中又は問診後、必要なビーズ収納プレートを保存場所から取り出してビーズアレイチップ作製装置にセットし、患者の検査に必要なプローブを固定したビーズをビーズアレイ容器内に並べることで、臨床現場で必要なビーズアレイチップを即座に作製し、検査に使用することができる。

## 【0042】

図3からわかるように、それぞれのビーズアレイ容器12のビーズ配置流路14に配置できるビーズの総数は、ビーズ収納プレート5のy方向に並ぶ収納部4の数に依存する。そのため、1枚のビーズ収納プレート5で、検査項目数が不足である場合は、ビーズ収納プレート5を複数同時にセットできるようなステージ7を用意する。あるいは、複数のビーズ収納プレートをステージに交換してセットする交換機構を用意する。

## 【0043】

以上の設定が終了した後、コンピュータ 26 のビーズ配置開始ボタンをクリックすることで、装置の自動運転が開始される。

## 【0044】

図 7 (A) ~ 図 7 (I) は、ある 1 つの収納部 4 に収納された複数のビーズ 28 から 1 個のビーズ 28 だけを取り出し、ビーズ配置流路 14 に導入する工程を示す断面模式図である。図のビーズアレイ容器 12 は、1 本のキャピラリ通路 20 と 3 本のビーズ配置流路 14 で構成されているものである。

## 【0045】

図 7 (A) は、第 1 の電動アクチュエータ 8 の制御により、目的とするビーズを保持している収納部 4 の開口部がビーズ捕捉キャピラリ 19 の開口部と Z 方向で対向する位置になるようにステージ 7 が移動した後の状態を示している。第 2 の板状部材 2 の下部に設けられた第 3 の電磁弁ユニット 21 が開放され、第 3 の板状部材 3 を第 2 の電動アクチュエータ 23 により、z 方向に移動し、ビーズアレイ容器 12 のキャピラリ通路 20 の下端から、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端を突き出す。図は、まさに、目的とする収納部 4 へビーズ捕捉キャピラリ 19 が挿入されることを示している。

## 【0046】

次に、図 7 (B) のように、第 2 の電動アクチュエータ 23 の制御により、第 3 の板状部材 3 が z 方向に下降移動し、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の下端が収納部 4 の内部に挿入される。このとき、第 4 の電磁弁ユニット 25 が開状態となり、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の内部が吸引される。図 7 (B) の過程で、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端にビーズ 28 が捕捉される。しかし、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端だけでなく、その外壁にも、静電気力により複数のビーズ 28 が吸着する。

## 【0047】

図 7 (C) から図 7 (F) は、第 2 の電動アクチュエータ 23 を制御して、第 3 の板状部材 3 に取り付けられているビーズ捕捉キャピラリ 19 を z 方向に移動し、ビーズアレイ容器 12 の内部へ引き戻す工程を示している。図 7 (C) は、

ビーズ捕捉キャピラリ 19 が収納部 4 の底に懸濁しているビーズ 28 から離れ、収納部 4 内の純水中にある状態を示している。このとき、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の開口部と、その外壁に複数のビーズ 28 が吸着している。図 7 (D) は、図 7 (C) の状態より、さらに z 方向にビーズ捕捉キャピラリ 19 を動かした状態を示しており、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端部が、気液界面 29 を、まさに通過する過程を示している。このときに、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の外面に吸着していた余分な複数のビーズ 28 は、気液界面 29 の表面張力により水面下へと削ぎ落とされる。

#### 【0048】

図 7 (E) は、収納部 4 の純水中から、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端を完全に大気中へ抜き出した状態を示し、このときには、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端には、ビーズ 28 が 1 個だけ保持されている。また、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端を、収納部 4 からビーズアレイ容器 12 内のキャピラリ通路 20 へ移動させる中間位置である大気中で、画像センサ 22 により、ビーズ捕捉キャピラリ 19 先端のビーズ 28 を画像検出する。

#### 【0049】

図 8 は、画像センサ 22 による画像検出法を説明する模式図である。図 8 (A) は画像検出システムの構成例を示す図、図 8 (B) は光の階調域設定画面とセンサ画面上に検出されたビーズを示す図である。

#### 【0050】

白色発光ダイオード 56 を用いた照明 30 を用いて、ビーズ 28 に焦点を合わせることで、ビーズ 28 から散乱光を画像検出する (図 8 (A))。予め、ビーズ散乱光の色階調域 32 以外の背景光の色階調域 57 をカットするように画像センサ 22 のプログラムを設定しておくことで、ビーズ 28 が、ビーズ捕捉キャピラリ 19 先端に保持されている場合には、ビーズ 28 の 1 個から発せられる散乱光がほぼビーズ 28 の形状を反映した形でセンサ画面 33 上に検出される図 8 (B)。一方、ビーズ捕捉キャピラリ 19 先端にビーズ 28 が保持されていない場合には、センサ画面 33 には設定階調域の散乱光が検出されないことになる。万一、画像センサ 22 により、ビーズ 28 が検出されない場合には、上述した図 7

(A) ~ (E) の工程を全てやり直す。

【0051】

ビーズ 28 が、画像センサ 22 により検出された後、図 7 (F) に示すように、第 2 の電動アクチュエータ 23 の制御により、ビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端は、ビーズアレイ容器内のキャピラリ通路 20 とビーズ配置流路 14 の交差点に移動する。図 7 (F) は、ビーズアレイ容器 12 内の 3 本のビーズ配置流路 14 のうちの第 2 の板状部材 2 側から z 方向に数えて 2 番目の交差点に、ビーズ捕捉キャピラリ 19 を位置させた状態を示している。

【0052】

図 7 (G)、図 7 (H) は、ビーズ捕捉キャピラリ 19 で保持しているビーズ 28 を、ビーズ配置流路 14 へ導入する工程を示す y-z 断面図である。

【0053】

図 7 (G) に示すように、第 4 の電磁弁ユニット 25 が閉状態となり、前記交差点 34 で第 2 の吸引ポンプ 24 によるビーズ捕捉キャピラリ 19 内の吸引が停止される。このとき、ビーズ捕捉キャピラリ 19 先端のビーズ 28 は、キャピラリ 19 内部の真空状態により先端に保持されたままである。また、第 4 の電磁弁ユニット 25 の制御と同時に、第 3 の電磁弁ユニット 21 も閉状態となる。

【0054】

この後、第 1 の電磁弁ユニット 15 が開状態となり、ビーズ配置流路 14 の 1 端から、水供給系 17 を用いて純水が供給される。このとき、ビーズ配置流路 14 の他端に繋がっている第 2 の電磁弁ユニット 16 も開状態となり、第 1 の吸引ポンプ 18 により、前記供給された純水が吸引される。上記純水の供給と、供給された純水の吸引により生じる水流 35 を利用することで、ビーズ 28 は物理的にビーズ捕捉キャピラリ 19 先端から削ぎ落とされ、水流 35 により、ビーズ配置流路 14 へ流し込まれる。

【0055】

ビーズアレイ容器 12 のビーズ配置流路 14 の途中には、堰 36 が設けられており、導入された 1 個目のビーズは、堰 36 で止まり、図 7 (H) のように配置される。

## 【0056】

上記説明では、図7（F）は、ビーズアレイ容器12内の3本のビーズ配置流路14のうちの、第2の板状部材2側からz方向に数えて2番目の交差点にビーズ捕捉キャピラリ19を位置させた状態を示しているが、実際には、第3の板状部材3のz方向の制御により、何れのビーズ配置流路14へも任意配列のビーズグループを形成することができる。その結果、ビーズアレイチップの最終形態として、y-z平面上に2次元に配置されたものが作製される。本実施例では、簡単のために、前記2番目のビーズ配置流路14にビーズ28を配列した結果についてのみ記述している。

## 【0057】

図7（I）は、ビーズ28の導入工程が終了した後、ビーズ捕捉キャピラリ19先端のビーズ28の有無を、画像センサ22で確認しているところを示している。図7（I）での画像検出により、ビーズ捕捉キャピラリ19先端にビーズ28が無いと確認されたところで、ビーズ1個のビーズ配置流路14への配置工程が終了する。万一、ビーズ28があると画像センサ22で判断された場合には、再び、図7（F）から図7（I）の工程をやり直す。

## 【0058】

図3のy方向に並ぶ異なる列の収納部4には、それぞれ異なる種類のプローブを固定したビーズ28が収納されている。第1の電動アクチュエータ8を制御して、第1の板状部材1をy方向に任意の距離だけ移動させて、y方向の移動により任意に選択できる収納部4を順次変更して、以上説明した図7（A）から図7（I）までの操作を繰り返すことで、異なる種類のプローブが固定されるビーズ28が、任意の所望の順番でビーズアレイ容器12のビーズ配置流路14に配置される。

## 【0059】

図7（J）と図7（K）は、洗浄槽6でのビーズ捕捉キャピラリ19先端の洗浄工程を示している。ビーズ28を1個、ビーズ配置流路14へ導入した後、次のビーズ28を収納部4から取り出す前に、ビーズ捕捉キャピラリ19の先端部が洗浄槽6内の洗浄液に浸され、洗浄される。

**【0060】**

以上、図7(A)から図7(K)までが、ビーズ28を1個配列させるための基本工程である。なお、ビーズ収納用プレート5の収納位置で対応付けられ、予めコンピュータに記憶させておいた種類分けの指標をもとに、ビーズ28が導入される毎に、ビーズアレイ容器12のビーズ配置流路14内に導入されていくビーズ28の指標と数量がコンピュータ26上に順次記録される。

**【0061】**

図9は、以上説明したビーズアレイチップの作製方法をフローチャートの形にして示したものである。

**【0062】**

本発明によるビーズチップアレイの作製方法は、前処理とビーズアレイチップ作製の2段階に分けることができる。前処理では、図1で説明したように、ビーズ収納プレート5の各収納部4に微小なビーズを分配し(S11)、各収納部4にDNAプローブ等の生体分子プローブを導入してビーズ表面に固定する(S12)。その後、ビーズ収納プレートの情報と各収納部のビーズ情報(プローブ種)をコンピュータに入力する(S13)。ビーズ収納プレートは、各収納部のビーズに異なる生体分子プローブを固定したものを複数用意し、それぞれにIDを付けて登録しておくことができる。次に、必要なビーズ収納プレート5をビーズアレイチップ作製装置のステージ7上の所定位置に配置し(S14)、必要数のビーズアレイ容器12をビーズアレイチップ作製装置の容器ホルダ13a, 13bに装着する(S15)。

**【0063】**

次に、ビーズアレイチップ作製装置を用いてビーズアレイチップを作製する。登録済みのプレート情報とビーズ情報をもとに、容器に配列するビーズとその順序、並べたいビーズアレイ容器内流路を、コンピュータ(制御装置)の表示画面上で選択し(S16)、配列開始ボタンを押す(S17)。すると、ビーズアレイチップ作製装置は設計通りのビーズアレイチップを自動的に作製する。具体的には、ビーズ捕捉キャピラリ19を下降してビーズ収納プレート5の目的とする収納部4に先端を浸漬して1個のビーズを捕捉し(S18)、上昇する。その過

程で、画像検出によりビーズ捕捉キャピラリ 19 の先端に 1 個のビーズが捕捉されていることを確認する (S 19)。ビーズ捕捉キャピラリ 19 にビーズが捕捉されていることが確認されたら、ビーズ捕捉キャピラリ 19 を更に上昇してビーズをビーズアレイ容器中に引き込み、ビーズを所定のビーズ配置流路に位置付けて、水流によりビーズをそのビーズ配置流路に導入する (S 20)。先端からビーズが外されたビーズ捕捉キャピラリ 19 は、次のビーズを捕捉するためにビーズアレイ容器の下方に下降し、その途中で画像検出によって先端にビーズを保持していないことの確認が行われる (S 21)。次に、ビーズ捕捉キャピラリ 19 は、先端が洗浄槽 6 に挿入され、洗浄が行われる (S 22)。ステップ 18 からステップ 22 の操作を選択したビーズ個数分の回数反復して、ビーズの配列操作が終了する (S 23)。こうして作製されたビーズアレイチップの使用に当たっては、コンピュータからビーズアレイチップの情報 (ビーズ種、配列順序) を取得し、その情報を用いてビーズアレイチップの選択、あるいは実験結果の解析が行われる。

#### 【0064】

図 10 (A) 及び図 10 (B) は、作製したビーズアレイチップにサンプル導入ジグ 44 を取り付けする方法の説明図である。ビーズ 28 の配置が終了した後、容器ホルダ 13 a, 13 b から、ビーズアレイ容器 12 を取り外し、キャピラリ通路の 2 つの開口部 37 を、PDMS 製の専用キャップ 41 でシールし、ビーズ配置流路の開口部 38 には、検査試料を導入するためのサンプル導入ジグ 44 を挿入する。

#### 【0065】

サンプル注入ジグ 44 には、ビーズの外径よりも小さい内径を有するサンプル注入キャピラリ 45 が取り付けられており、サンプル注入キャピラリ 45 の先端は、図 10 (B) のように、キャピラリ通路 20 とビーズ配置流路 14 の交差点を通過したところに位置するように、設計してある。サンプル注入ジグ 44 は、ビーズ配置流路との接合部分に PDMS 材を用いており、リークが無いように、安全に密着固定される。また、図 10 (B) は、本発明のビーズアレイチップ作製装置を用いて作製したビーズアレイチップを安価な遺伝子検査用ツールとして

販売する時の形態でもある。ユーザは、内部に収納されたビーズ上のプローブの種類、配列順序が明記された記憶媒体とともに、ビーズアレイチップを購入する。

#### 【0066】

次に、作製したビーズアレイチップを用いて、遺伝子検査を行う方法について説明する。ここでは、任意の順列を有すDNAプローブアレイをビーズ配置流路14に作製したビーズアレイチップを用い、蛍光標識を施した特定のターゲットDNAを、DNAプローブアレイ上でハイブリダイズさせる例を説明する。

#### 【0067】

本実施例では、塩基配列の異なる24種類の5'-チオール基修飾した18merの合成オリゴヌクレオチドをプローブDNAとして用いた。また、24種類のプローブDNAのうち、5番目にビーズ配置流路14に収納した配列1を有する一本鎖DNAプローブ固定化ビーズ47、10番目に収納した配列2を有する一本鎖DNAプローブ固定化ビーズ48に対して相補的なCy3標識した配列3を有する一本鎖ターゲットDNA49とTexasRed標識した配列4を有する一本鎖ターゲットDNA50の2種類を別途用意する。

(配列1) 5'-thiol-ATCT...CCTC

(配列2) 5'-thiol-CTAC...GACG

(配列3) 5'-Cy3-GAGG...AGAT

(配列4) 5'-TexasRed-CGTC...GTAG

#### 【0068】

また、ビーズアレイ容器12内へのビーズの配列工程前に行うビーズ28の調製法を以下に示す。本実施例では、外径100 $\mu$ mのアミノ基修飾したガラス製のビーズを使用し、図1に示した調製模式図に沿ってビーズの調整を行う。複数のビーズを、室温の0.01%のN-(4-マレイミドブチオキシ)スクシイミド溶液(エタノール:50%、ジメチルスルホキシド:50%)中で1時間反応させ、50%エタノール、50%ジメチルスルホキシドの混合液でさらに洗浄し、マレイミド基修飾ビーズを調整する。次に、24種類のプローブDNAを用意し、x方向に並ぶ一列の16個の収納部には、同種類のプローブDNAを固定し



たビーズを、y方向には異なる種類のプローブを固定したビーズを作製する。マレイミド基修飾ビーズへのプローブDNAの固定は、異なる塩基配列を有する5'-末端チオール修飾した合成DNAと反応させて行う。室温の各種0.1 nM合成DNA-20 mMリン酸バッファ (pH 7.0) 溶液中で1時間反応させた後、20 mMリン酸バッファ (pH 7.0) 溶液と水で順に洗浄し、DNAプローブ固定化ビーズ群42を得る。

#### 【0069】

以上の方法で、調製されたビーズを収納したビーズ収納プレートを図3に示した装置のステージにセットし、上述した手順で、384穴マイクロタイタープレートのy方向に並ぶ各収納部毎に、異なる24種類の検査プローブを有するビーズ28を1個ずつビーズアレイ容器12内のビーズ配置流路14に導入することで、ビーズアレイを作製する。

#### 【0070】

図11は、DNA固定化ビーズを配置した本発明のビーズアレイチップを用いて、ハイブリダイゼーション実験を行う方法を説明する模式図である。これは、本実施例で作製したビーズアレイチップ52を示しており、1つのビーズ配置流路14に24種類の異なるビーズが配置され、1枚のビーズアレイチップ52の他の2つのビーズ配置流路14にも、何れも、同じビーズグループが形成されたものである。図11の断面図には、3つのビーズ配置流路14のうちの1本のビーズ配置流路14のみを示している。

#### 【0071】

一本鎖ターゲットDNA 49と一本鎖ターゲットDNA 50をそれぞれ1  $\mu$ Mの濃度で含んだ20 mMリン酸バッファ (pH 7.0) 溶液を図11のビーズアレイチップ52のビーズ配置流路14に流し、45℃でハイブリダイゼーション反応を行う例について示す。ビーズ配置流路14への送液は、シリンジポンプ等を用いて行う。反応後、ハイブリダイゼーション反応に寄与しなかった残留ターゲットDNAを20 mMリン酸バッファ (pH 7.0) 溶液と純水で順に洗浄し乾燥させる。その後、水銀ランプを光源とし、Cy3とTexasRedの発光波長を中心としたCy3用ロングパスフィルターとTexasRed用ロングパスフィルターを順

に用いて、ビーズアレイ用キャピラリ内の各ビーズの蛍光顕微鏡観察を行った。

#### 【0072】

図12は、ビーズアレイチップを用いて、上述した条件のもとでハイブリダイゼーション反応を行った結果を示す図である。図12（A）は、ビーズアレイチップ52の透過顕微鏡像である。図12（B）は、Cy3用ロングパスフィルターを介した蛍光顕微鏡観察結果、図12（C）は、TexasRed用ロングパスフィルターを介した蛍光顕微鏡観察結果を示している。

#### 【0073】

図12（B）と図12（C）より、24個並んだビーズ28のうち、5番目のビーズがCy3の蛍光53を、10番目のビーズがTexasRedの蛍光54をそれぞれ発しているのがわかる。このことは、一本鎖DNAプローブ固定化ビーズ47に対して一本鎖ターゲットDNA49が、一本鎖DNAプローブ固定化ビーズ48に対して一本鎖ターゲットDNA50が確実にハイブリダイズしたことを示しており、本配列装置により、任意の順列で、プローブに影響を与えず、ビーズアレイ容器12内にDNAプローブアレイを作製することができることを示している。

#### 【0074】

##### 【発明の効果】

本発明によれば、生体分子を固定したビーズを並べたビーズアレイチップを、低い製造コストで効率よく作製することができる。

##### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

ビーズの調製法及びビーズ収納プレートの構成例の説明図。

##### 【図2】

ビーズアレイチップ用容器の概略説明図。

##### 【図3】

本発明によるビーズアレイチップ作製装置の概略図。

##### 【図4】

ビーズアレイ容器をビーズアレイチップ作製装置にセットする様子を示す模式

図。

【図 5】

本発明のビーズアレイチップ作製装置のプリセット状態を示す図。

【図 6】

コンピュータの表示画面例を示す図。

【図 7 (A)】

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図

。

【図 7 (B)】

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図

。

【図 7 (C)】

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図

。

【図 7 (D)】

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図

。

【図 7 (E)】

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図

。

【図 7 (F)】

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図

。

【図 7 (G)】

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図

。

【図 7 (H)】

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図

。

**【図 7 (I)】**

収納部から 1 個のビーズを取り出し、ビーズ配置流路に導入する工程を示す図。

**【図 7 (J)】**

ビーズ捕捉キャピラリ先端の洗浄工程を示す図。

**【図 7 (K)】**

ビーズ捕捉キャピラリ先端の洗浄工程を示す図。

**【図 8】**

画像センサによる画像検出法を説明する模式図。

**【図 9】**

ビーズアレイチップの作製方法を示すフローチャート。

**【図 1 0】**

ビーズアレイ容器にサンプル導入ジグを取り付ける方法の説明図。

**【図 1 1】**

本発明のビーズアレイチップを用いてハイブリダイゼーション実験を行う方法を示す模式図。

**【図 1 2】**

本発明のビーズアレイチップを用いてハイブリダイゼーション反応を行った結果を示す図。

**【符号の説明】**

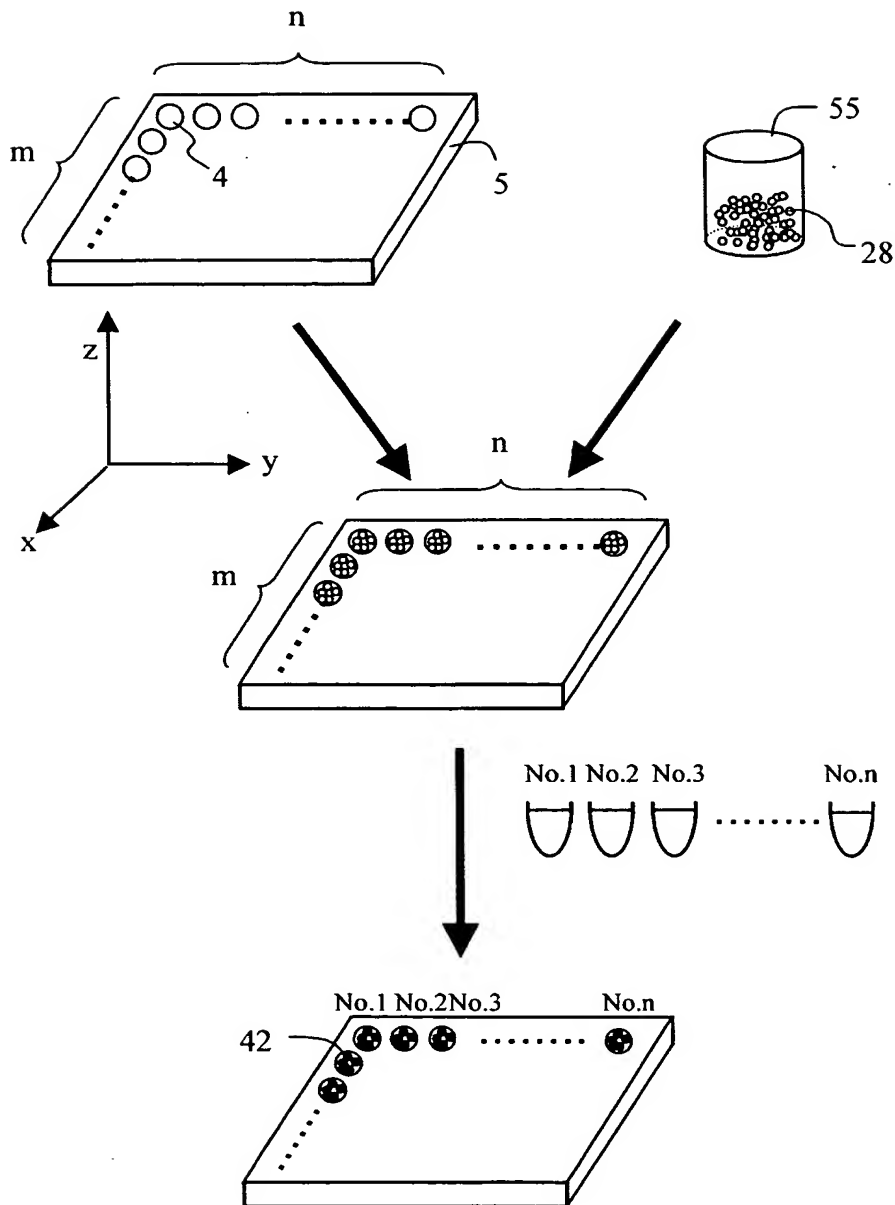
1…第 1 の板状部材、2…第 2 の板状部材、3…第 3 の板状部材、4…収納部、5…ビーズ収納プレート、6…洗浄槽、7…ステージ、8…第 1 の電動アクチュエータ、12…ビーズアレイ容器、13 a, 13 b…容器ホルダ、14…ビーズ配置流路、15…第 1 の電磁弁ユニット、16…第 2 の電磁弁ユニット、17…水供給系、18…第 1 の吸引ポンプ、19…ビーズ捕捉キャピラリ、20…キャピラリ通路、21…第 3 の電磁弁ユニット、22…画像センサ、23…第 2 の電動アクチュエータ、24…第 2 の吸引ポンプ、25…第 4 の電磁弁ユニット、26…コンピュータ（制御装置）、28…ビーズ、34…PDMS 製ソケット、35…水流、36…堰、41…専用キャップ、42…プローブ固定化ビーズ群、4

4 … サンプル導入ジグ、 4 5 … サンプル注入キャピラリ、 5 2 … ビーズアレイチップ、 5 5 … ビーズ容器

【書類名】 図面

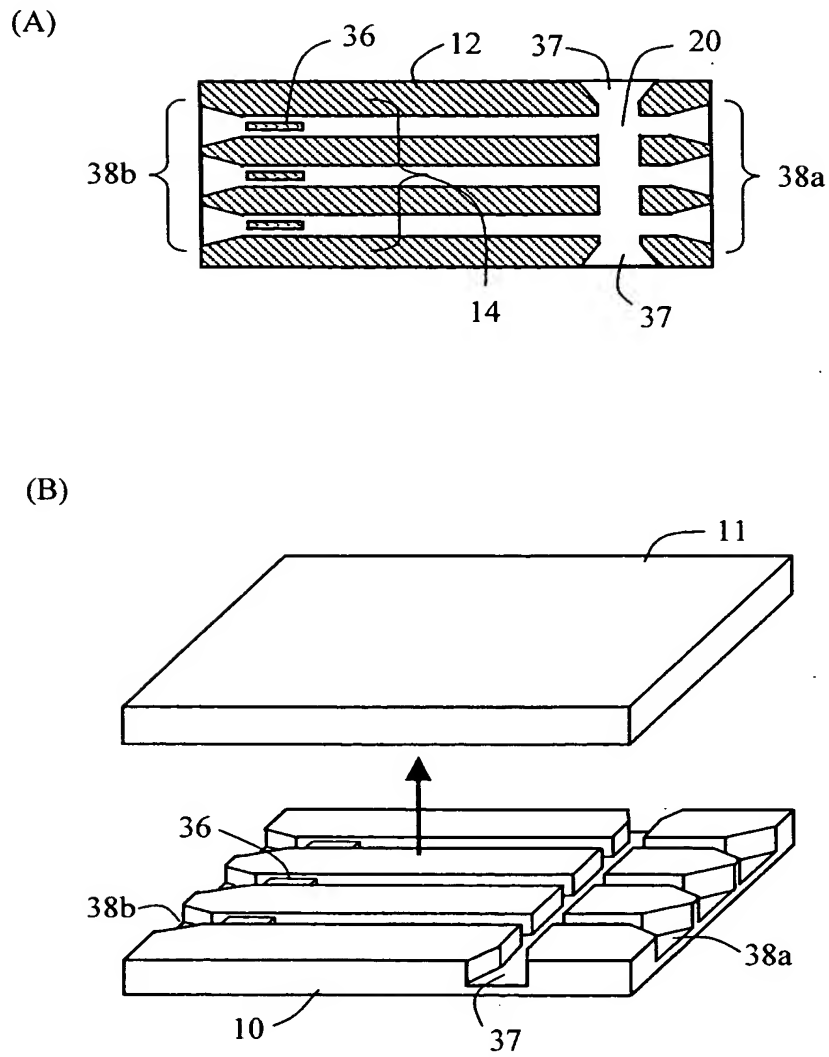
【図 1】

図 1



【図 2】

図 2

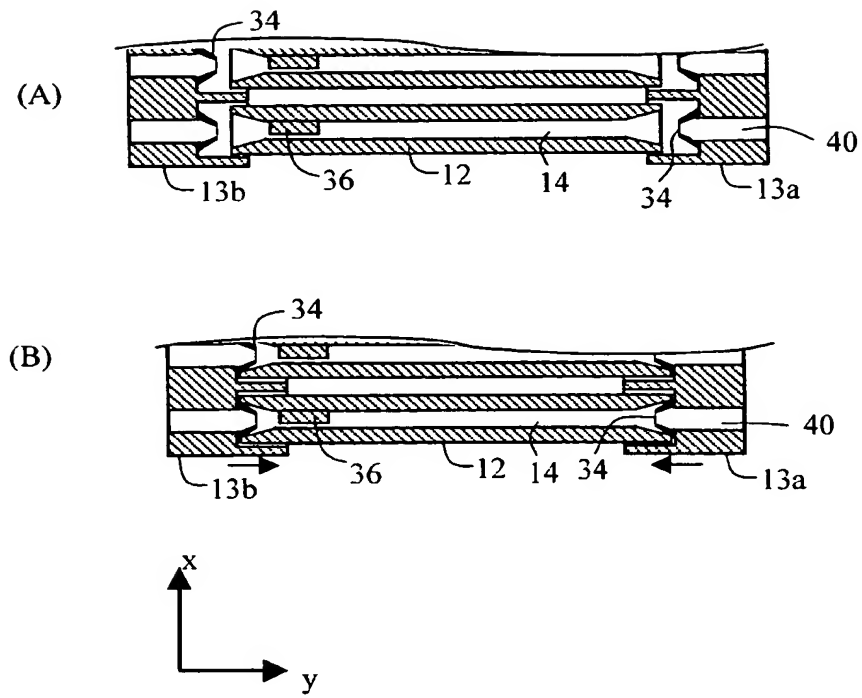






【図 4】

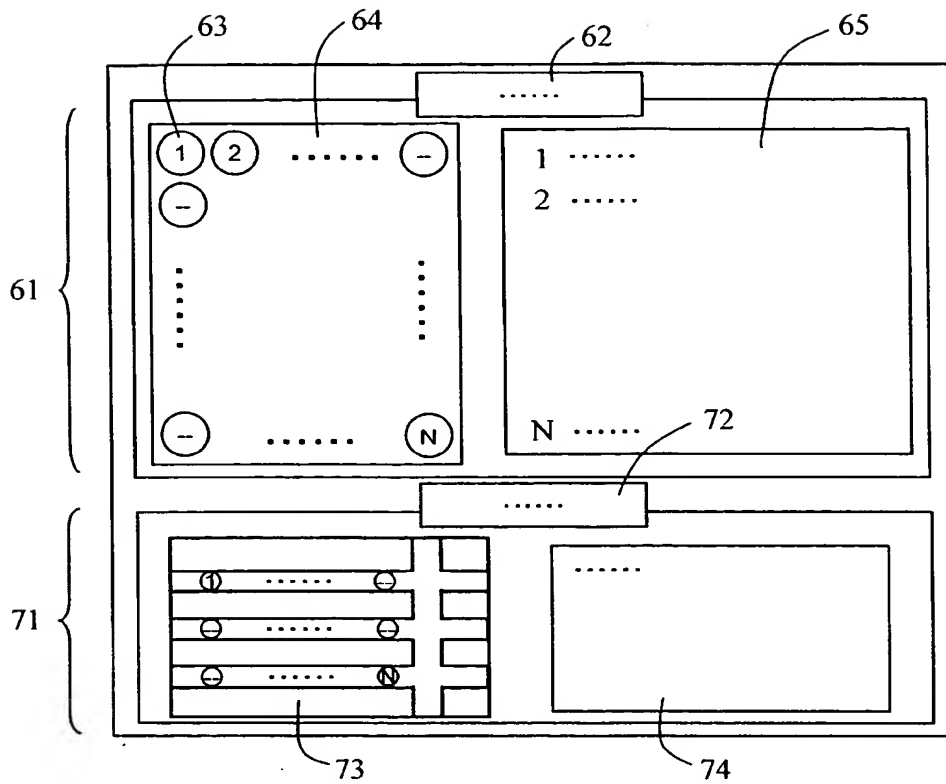
図 4





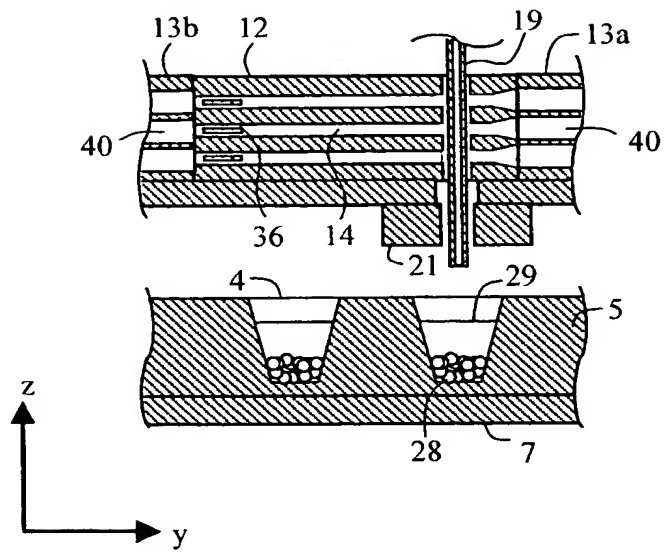
【図 6】

図6



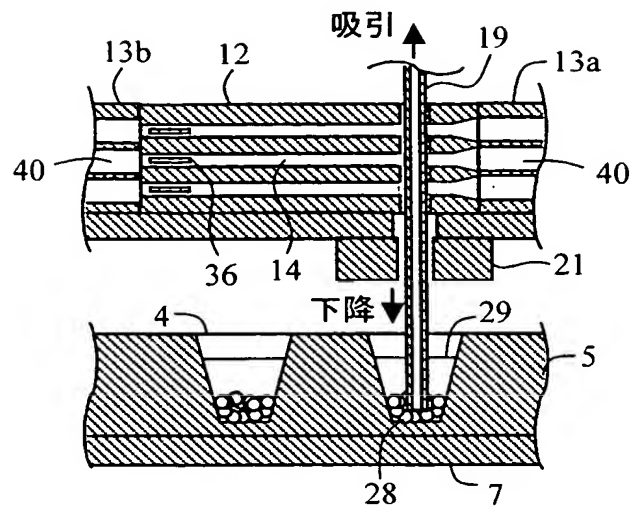
【図 7 (A)】

図 7 (A)



【図 7 (B)】

図 7 (B)

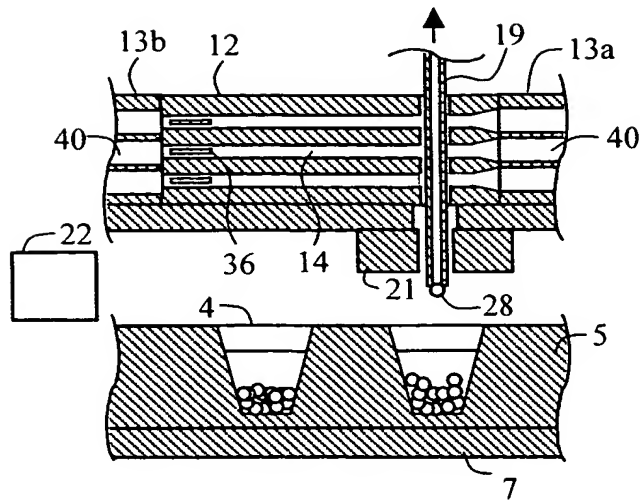






【図 7 (E)】

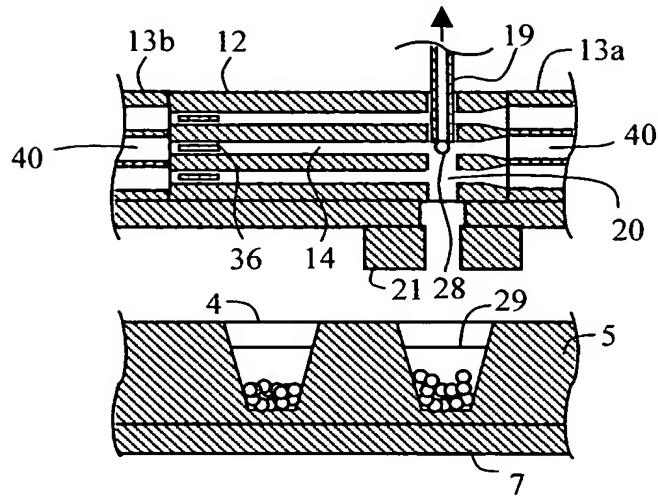
図 7 (E)





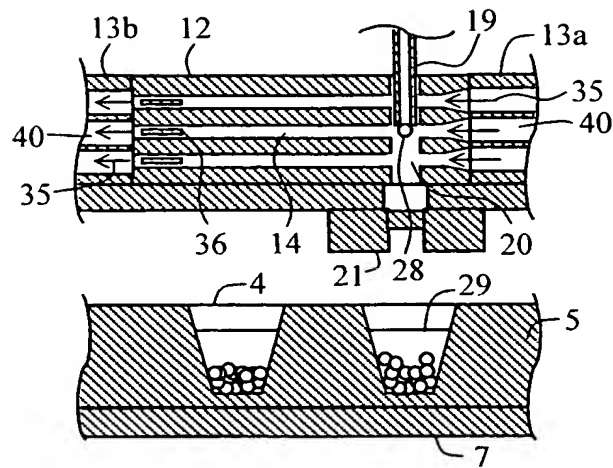
【図 7 (F)】

図 7 (F)



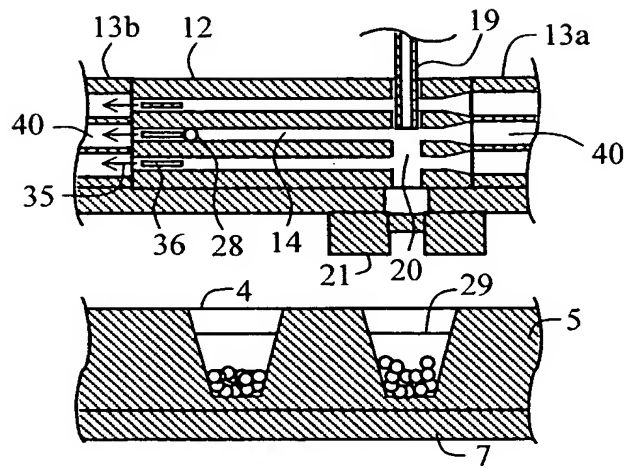
【図 7 (G)】

図 7 (G)



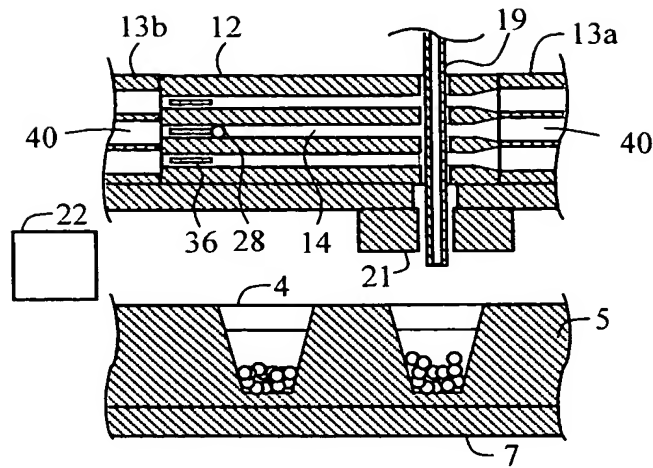
【図 7 (H)】

図 7 (H)



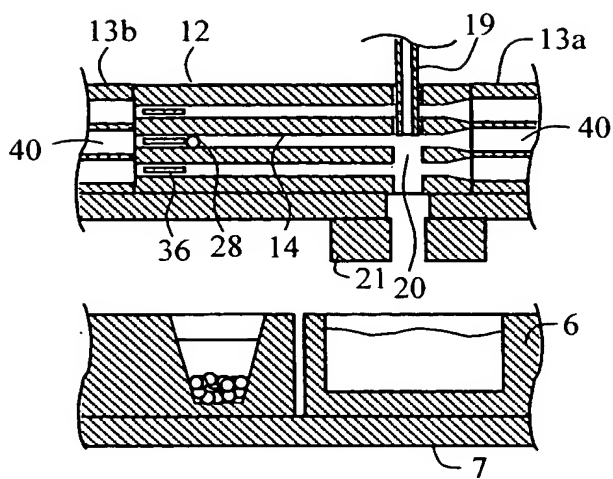
【図 7 (I)】

図 7 (I)



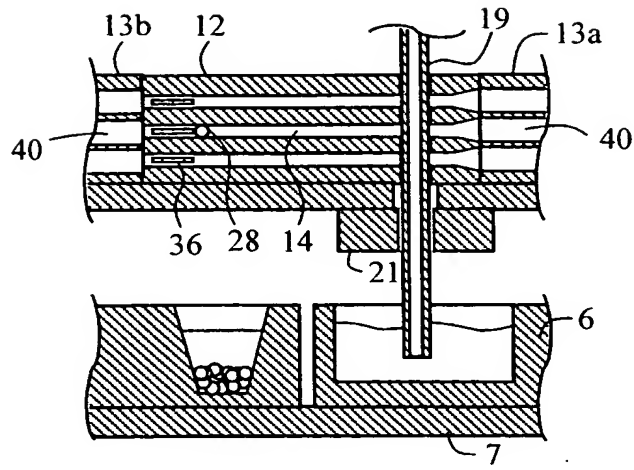
【図 7(J)】

図 7(J)



【図 7 (K)】

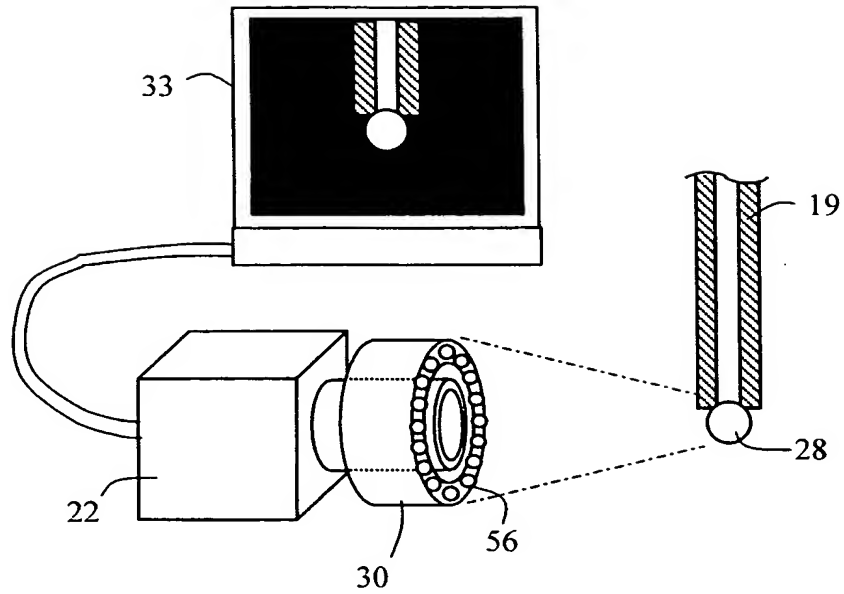
図 7 (K)



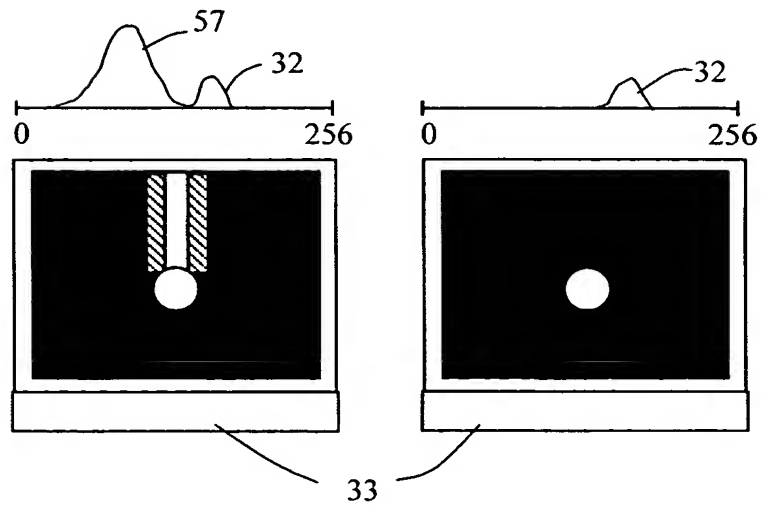
【図 8】

図 8

(A)

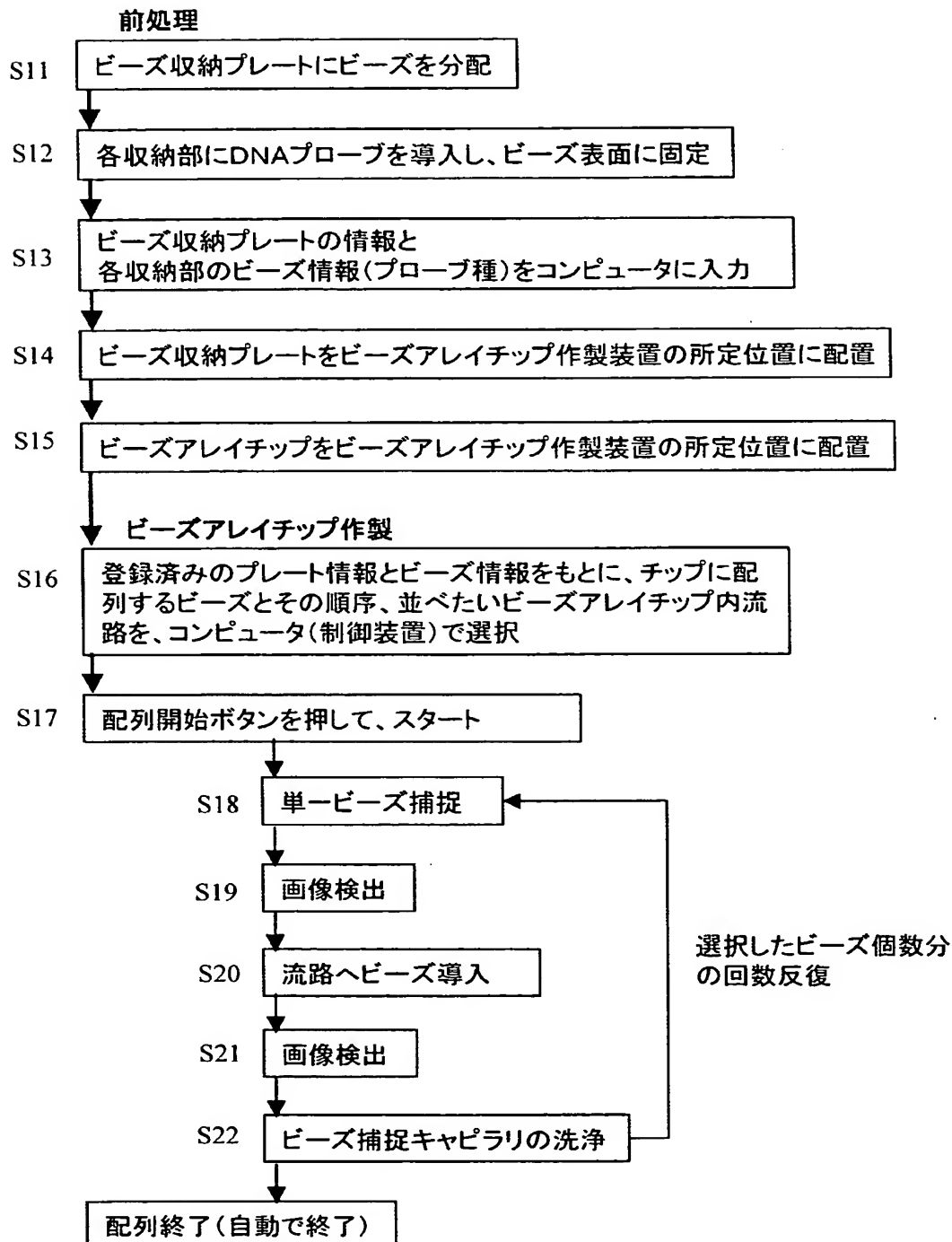


(B)



【図 9】

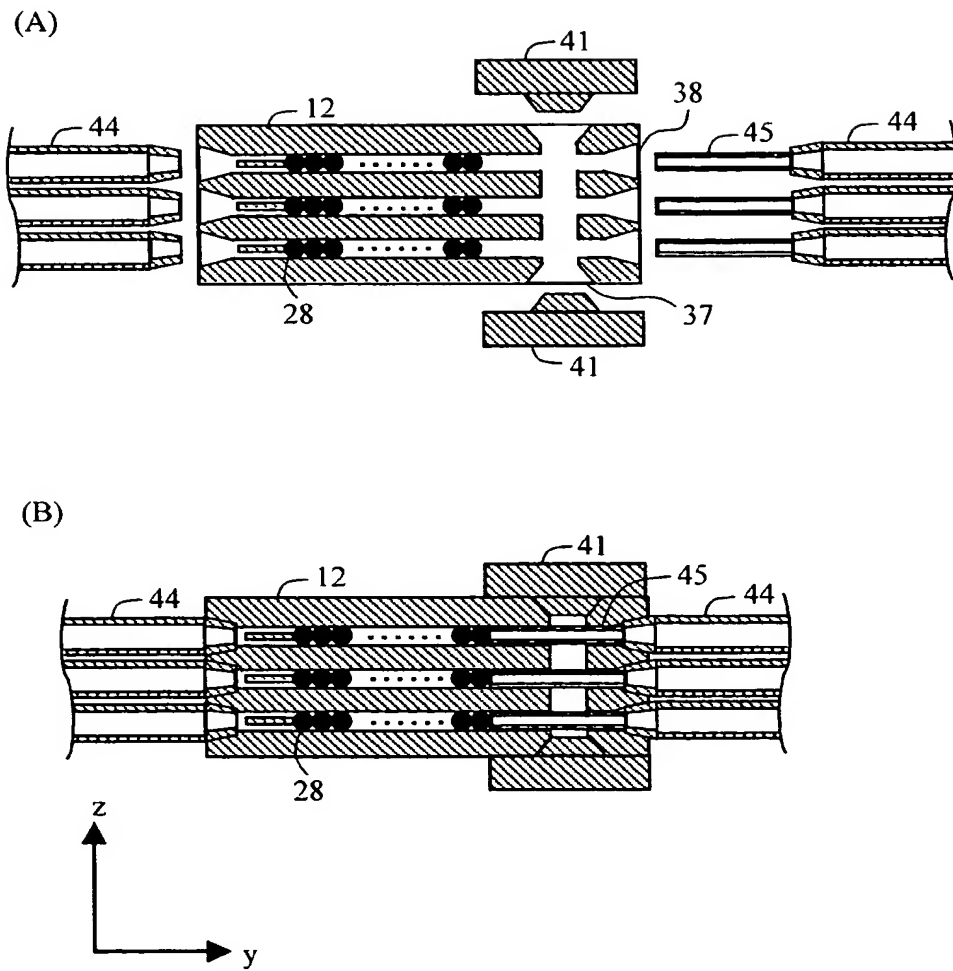
図9





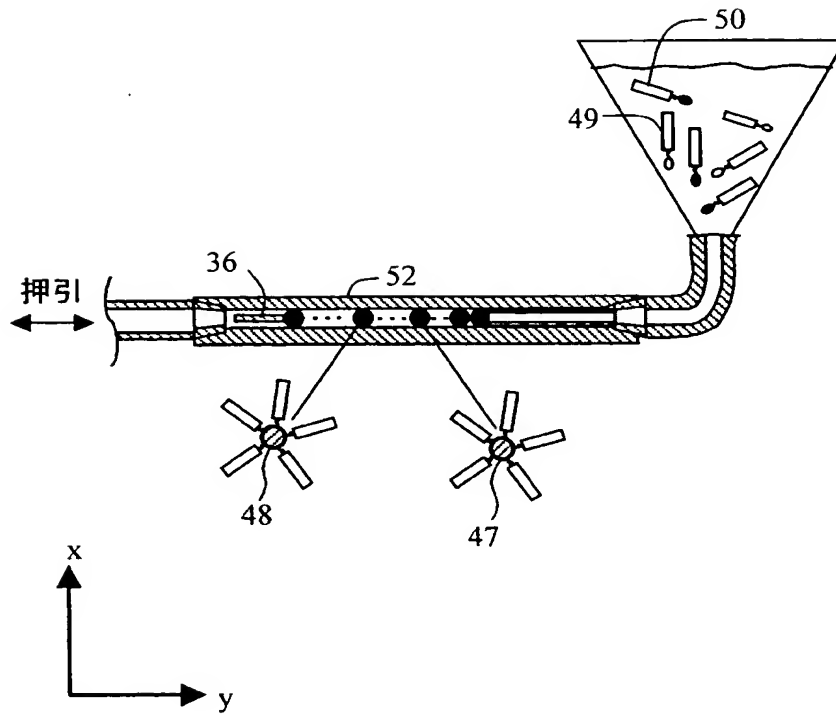
【図 10】

図 10



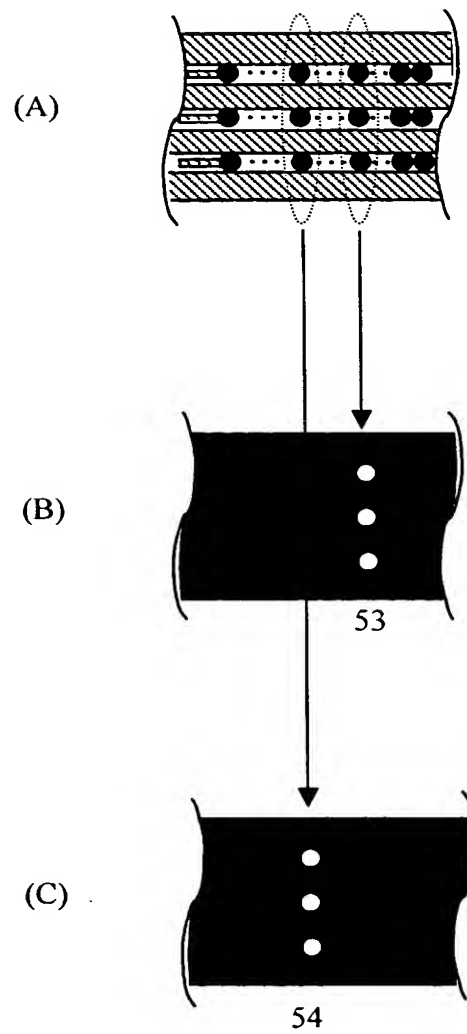
【図 11】

図 11



【図 12】

図12



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 生体分子プローブを固定した複数のビーズをビーズアレイ容器に予め定めた順序で配置し、同一チップ上に簡便に 2 次元のビーズアレイを形成する。

【解決手段】 平行に設けられた複数の第 1 の貫通路 1 4 及びそれと交差する第 2 の貫通路 2 0 を有する容器 1 2 を容器保持部に保持し、容器 1 2 の第 2 の貫通路 2 0 を通してキャピラリ 1 9 を上下方向に駆動する。キャピラリ 1 9 を下降して先端にビーズ収納プレート 5 の収納部 4 に収納されたビーズを 1 個吸引保持し、所望の第 1 の貫通路 1 4 の位置まで引き上げる。その状態で、水供給系 1 7 から第 1 の貫通路 1 4 に純水を供給し、吸引ポンプ 1 8 で吸引して水流を発生する。キャピラリ 1 9 の先端に保持されたビーズは、水流に乗って運ばれ、第 1 の貫通路 1 4 の途中に設けられた堰に当たって止まり、そこに保持される。この操作を反復することでビーズアレイチップが作製される。

【選択図】 図 1

特願 2 0 0 3 - 1 8 5 5 8 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 0 0 0 0 0 5 1 0 8 ]

1. 変更年月日	1 9 9 0 年 8 月 3 1 日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都千代田区神田駿河台 4 丁目 6 番地
氏 名	株式会社日立製作所